

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Higiene Tangan

2.1.1. Definisi

Higiene tangan adalah usaha membersihkan tangan dan jari jemari menggunakan berbagai produk higiene agar bersih dari berbagai kotoran seperti tanah, debu, maupun mikroorganisme.¹ Praktik higiene tangan dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya adalah cuci tangan (*handwashing*) yaitu membasuh tangan menggunakan air mengalir dan sabun atau larutan antiseptik. Cara selanjutnya adalah *handrubbing* yang dilakukan dengan menggosok-gosokkan cairan antiseptik ke tangan tanpa memerlukan bilasan air maupun pengering. Efektivitas *handwash* terbukti lebih tinggi dibandingkan pelaksanaan *handrub*. Pada beberapa tempat dan kondisi akses air bersih yang sulit, *handrub* dapat dijadikan alternatif higiene tangan.²

2.1.2. Manfaat

Mencuci tangan sebagai praktek higienitas tangan telah terbukti mampu menyingkirkan *transient bacteria* selama pelaksanaannya dilakukan dengan teknik yang benar dan tepat. Hal ini tentunya dapat mencegah berbagai infeksi yang ditularkan melalui kontak tangan di masyarakat. Bagi kepentingan medis, mencuci tangan juga melindungi pasien dari infeksi nosokomial yang bersumber dari tangan praktisi medis.

Mencuci tangan sebagai usaha memutus rantai penularan berbagai penyakit infeksi dapat menekan biaya-biaya kesehatan yang dikeluarkan negara.^{1,8}

Mengingat manfaat dan kebutuhan manusia akan keberadaan *resident bacteria*, mencuci tangan juga terbukti tidak membasmi total seluruh flora normal. Keberadaan flora normal sulit disingkirkan oleh karena lokasi pertumbuhan *resident bacteria* yang terlindungi oleh rambut, sebum, dan sel-sel kulit mati.^{2,17,18}

2.1.3. Indikasi

Indikasi atau waktu yang dianjurkan untuk melakukan cuci tangan bagi masyarakat dan komunitas sesuai anjuran pemerintah: sebelum dan setelah menyiapkan makanan, sebelum makan, setelah buang air besar, setelah menceboki bayi/anak, setelah bersin dan batuk, setelah memegang unggas atau binatang, dan setelah membuang sampah.^{1,8}

Indikasi mencuci tangan bagi tenaga medis saat berada di rumah sakit atau sarana kesehatan lain meliputi lima waktu tertentu: sebelum memegang pasien, sebelum melakukan prosedur aseptik, saat terkena cairan tubuh yang berisiko, setelah memegang pasien, dan setelah memegang area sekitar pasien.²

2.2. Keberadaan Bakteri di Tangan

2.2.1. Jenis Bakteri

Setiap harinya tangan manusia melakukan kontak dengan berbagai objek yang terkontaminasi bakteri. Kulit manusia masih dikatakan steril

ketika berada di dalam kandungan ibu. Kulit manusia mulai terpajan oleh bakteri flora normal ketika seorang manusia lahir dan melakukan kontak dengan lingkungan eksternal. Seiring bertambahnya usia, bakteri yang hidup pada kulit manusia bertambah banyak, terutama pada stratum korneum epidermis dan lapisan superfisial folikel rambut. Flora normal ini disebut *resident bacteria*, dimana kehadirannya tidak membahayakan bagi kesehatan. *Resident bacteria* justru menguntungkan bagi manusia sebab keberadaannya dapat mencegah dominasi bakteri sporadis yang berbahaya karena menyebabkan penyakit atau disebut sebagai *transient bacteria*. Keberadaan *transient bacteria* tidak permanen pada kulit manusia dan diperoleh secara transien dari lingkungan eksternal.^{4,17}

Kulit normal manusia dikolonisasi oleh sejumlah bakteri yang berbeda-beda menurut persebaran area. Jumlah total bakteri aerobik sebanyak 1×10^6 CFU/cm² terdapat padapada kulit kepala, 5×10^5 CFU/cm² di ketiak, dan 4×10^4 CFU/cm² di perut serta 1×10^4 pada lengan bawah.^{2,19}

Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya, terdapat variasi jenis bakteri yang mendiami telapak tangan manusia, diantaranya adalah bakteri Gram negatif berbentuk kokus yang diduga merupakan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, bakteri Gram negatif berbentuk kokus yang diduga merupakan bakteri *Escherichia coli*, bakteri Gram positif berbentuk bacillus (batang) yang diduga merupakan bakteri *Lactobacillus coryneformis*, bakteri Gram negatif berbentuk bacillus (batang) yang diduga merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.²⁰

Jenis bakteri pada telapak tangan pekerja medis memiliki variasi yang lebih tinggi terutama dari jenis *transient bacterial*. Hal tersebut disebabkan oleh aktifitas kontak langsung maupun tidak langsung terhadap pasien sehingga menimbulkan kontaminan hingga infeksi silang melalui tangan petugas kesehatan.¹⁹

Tabel 2. Daftar bakteri yang ditemukan pada tangan manusia.^{2,4,18,20,21}

| <i>Flora Normal (Resident Bacterial)</i> | <i>Flora Patogen (Transient Bacterial)</i> |
|--|--|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>Staphylococcus coagulase-negatif</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Corynebacterium sp</i> | <i>Salmonella sp</i> |
| <i>Propionibacterium sp</i> | <i>Shigella sp</i> |
| <i>Acinobacter sp</i> | <i>Clostridium perfringens</i> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (jumlah kecil) | <i>Klebsiella sp</i> |
| | <i>Proteus mirabillis</i> |

2.2.2. Faktor-faktor yang Memengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Faktor yang memengaruhi pertumbuhan bakteri dibedakan menjadi faktor fisik dan faktor kimia. Faktor fisik terdiri dari temperatur, pH, tekanan osmotik, oksigen, dan radiasi. Sedangkan faktor kimia meliputi nutrisi dan media kultur.²²

Temperatur menentukan aktivitas enzimatik, dimana peningkatan temperatur sebesar 10°C dapat meningkatkan aktivitas enzim sebanyak dua kali lipat. Suhu yang terlampau tinggi akan mendenaturasi protein secara *irreversible*, sebaliknya pada suhu terlampau rendah akan

menghentikan aktivitas enzim. Temperatur optimal adalah temperatur yang mengoptimalkan kecepatan pertumbuhan sehingga dihasilkan jumlah sel yang maksimal. Sebagian besar bakteri patogen manusia bersifat mesofil, dimana pertumbuhan optimal terjadi pada suhu 20°-45°C.²²

pH yang meningkat maupun menurun dari pH optimal dapat mengionisasi gugus protein, amino, dan karboksilat sehingga menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu pertumbuhan sel. Tekanan osmosis juga memengaruhi pertumbuhan bakteri, dimana pada larutan hipotonik air akan masuk ke dalam sel terus menerus, sedangkan pada larutan hipertonik air akan keluar dari dalam sel sehingga membran plasma mengkerut dan lepas dari dinding sel (plasmolysis).^{22,23}

Kebutuhan oksigen bervariasi tergantung pada sifat bakteri. Pada bakteri aerob, oksigen dibutuhkan untuk menunjang kehidupan. Sebaliknya pada bakteri anaerob, oksigen justru menghambat pertumbuhannya. Paparan radiasi pengion, yaitu radiasi dari panjang gelombang yang sangat pendek dan berenergi tinggi, pada level rendah dapat mengakibatkan mutasi bakteri dan pada level tinggi menimbulkan sifat letal.^{22,23}

Nutrisi merupakan substansi yang dibutuhkan dalam biosintesis dan pembentukan energi. Kebutuhan nutrisi bakteri dibedakan menjadi makroelemen dan mikroelemen. Makroelemen dibutuhkan dalam jumlah banyak seperti karbon, oksigen, hidrogen, dan nitrogen, sedangkan mikroelemen dibutuhkan dalam jumlah sedikit seperti zink, nikel, dan

tembaga. Bahan nutrisi yang digunakan di laboratorium disebut media kultur.^{4,22}

2.2.3. Kepekaan Bakteri terhadap Antiseptik

Antiseptik adalah suatu produk dengan kandungan zat yang dapat merusak atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan hidup seperti kulit.^{2,4} Antiseptik mampu membunuh bakteri (bakterisidal) dan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) melalui agen antibakterial yang bekerja melalui beberapa cara, yaitu mengganggu proses sintesis dinding dan membrane sel bakteri, menghambat produksi dan mendenaturasi protein, atau mengganggu proses sintesis DNA.⁴

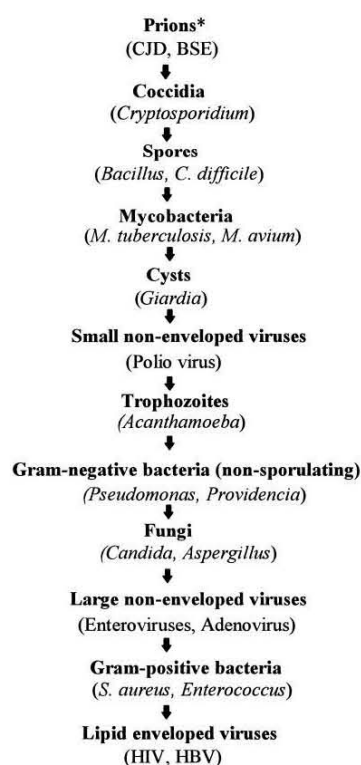
Aktivitas antiseptik terhadap beberapa bakteri dapat dilihat pada (Gambar 1.)

| Antiseptics | Gram-positive bacteria | Gram-negative bacteria | Viruses enveloped | Viruses non-enveloped | Mycobacteria | Fungi | Spores |
|--|------------------------|------------------------|-------------------|-----------------------|--------------|----------------|----------------|
| Alcohols | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | +++ | - |
| Chloroxylonol | +++ | + | + | ± | + | + | - |
| Chlorhexidine | +++ | ++ | ++ | + | + | + | - |
| Hexachlorophene ^a | +++ | + | ? | ? | + | + | - |
| Iodophors | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ± ^b |
| Triclosan ^d | +++ | ++ | ? | ? | ± | ± ^e | - |
| Quaternary ammonium compounds ^c | ++ | + | + | ? | ± | ± | - |

Gambar 1. Aktivitas antiseptik terhadap berbagai bakteri.¹¹

Antiseptik dalam keberhasilannya mencapai target harus bisa menembus lapisan luar dinding sel bakteri yang berfungsi sebagai penghalang masuknya zat lain dari luar dinding bakteri. Sifat dan komposisi dari dinding sel bergantung dari jenis bakteri itu sendiri. Berbagai jenis mikroorganisme memiliki variasi yang berbeda-beda dalam

merespons zat yang bersifat antiseptik. Hal tersebut dipengaruhi oleh struktur seluler, komposisi dan fisiologi dari tiap mikroorganisme. Kerentanan berbagai mikroorganisme terhadap antiseptik mulai dari kerentanan rendah hingga kerentanan tinggi dapat dilihat pada (Gambar. 2).^{24,25}



Gambar 2. Kerentanan mikroorganisme terhadap antiseptik.²⁵

Bakteri Gram negatif cenderung lebih resisten terhadap antiseptik dibandingkan dengan bakteri Gram positif dilihat dari komponen dan permeabilitas dinding bakteri tersebut.²⁴

Sel dinding dari *S. aureus* sebagai bakteri Gram positif pada dasarnya terdiri dari peptidoglikan dan asam tekoik yang tersusun seperti rajutan sehingga menghasilkan dinding sel yang kaku. Kapsul tebal

polisakarida strain mucoid *Staphylococcus* juga merupakan faktor resistensi terhadap antiseptik. Dimana strain non-mukoid pada bakteri Gram positif lebih mudah terbunuh oleh antiseptik dan desinfektan dibandingkan strain mukoid. *Enterococcus* pada umumnya kurang resisten terhadap antiseptik dibandingkan dengan *Staphylococcus* sebagai sesama bakteri golongan gram positif.^{21,25}

Bakteri Gram negatif secara umum lebih resisten terhadap antiseptik dan desinfektan dibanding bakteri lain. Meskipun memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis, namun bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dan tersusun atas tiga lapis, yaitu membran luar dan membran dalam sebagai barrier berlapis yang membatasi masuknya berbagai zat antibakteri termasuk antiseptik. *Pseudomonas aeruginosa* jauh lebih resisten terhadap sebagian besar agen antibakteri, termasuk klorheksidin.^{21,24}

Tabel 3. Tabel Resistensi Bakteri terhadap Antiseptik dan Disinfektan.²⁵

| Bakteri Resistens | Antiseptik | Mekanisme Resistensi |
|----------------------|-----------------------------------|--|
| Bakteri Gram-positif | Klorheksidin | Mukoeksopolisakarida menurunkan difusi zat antiseptik. |
| Mycobacteria | Klorheksidin, QACs, Glutaraldehyd | Dinding sel berlilin mencegah masuknya zat antiseptik secara adekuat. |
| Bakteri berspora | Klorheksidin, QACs, fenolik | Lapisan spora (<i>coat</i> dan <i>cortex</i>) mencegah masuknya antiseptik dan desinfektan. |
| Bakteri Gram-negatif | QACs, triclosan, diamin | Membran luar bertindak sebagai barrier pencegah masuknya antiseptik dan desinfektan, glycocalyx diduga terlibat. |

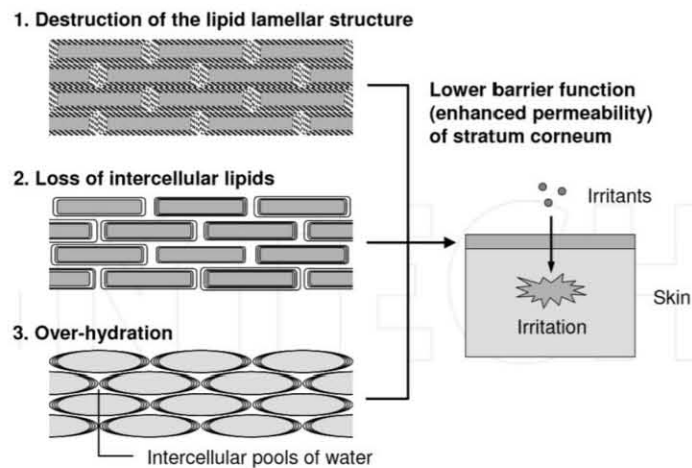
2.3. Iritasi Kulit pada Pemakaian Berulang Antiseptik Alkohol

WHO telah mengeluarkan rekomendasi formulasi antiseptik higiene tangan yang dibagi menjadi Formulasi I (ethanol 80%) dan Formulasi II (isopropil alkohol 75%). Kedua formulasi tersebut memiliki bahan aktif berupa senyawa alkohol.² Hal ini disebabkan oleh karena alkohol memiliki kemampuan mendenaturasi protein dengan konsentrasi 60-80% sebagai konsentrasi optimal. Konsentrasi yang lebih tinggi menunjukkan efek antibakteri yang lebih lemah oleh karena proses denaturasi protein sulit dilakukan tanpa keberadaan air yang cukup. Penelitian yang telah ada menyatakan bahwa efek toksisitas alkohol terhadap kulit tangan manusia tergolong rendah, namun jumlah keluhan iritasi kulit akibat penggunaan *alcohol-based hand rub* (AHR) masih tergolong banyak.^{19,26}

Iritasi kulit tidak disebabkan oleh toksisitas alkohol, melainkan akibat kerusakan lapisan dan komponen epidermis sehingga memudahkan penetrasi bakteri penyebab iritasi. Paparan antiseptik alkohol mampu melarutkan struktur lipid pada lapisan korneum epidermis yang berfungsi sebagai *barrier*. Alkohol yang tersisa pada kulit akan menguap meninggalkan kerusakan struktur lamellar lipid. Antiseptik berbahan deterjen juga dapat meluruhkan lipid yang berperan sebagai pertahanan permukaan kulit. Hilangnya *barrier* pertahanan tersebut menyebabkan penetrasi molekul deterjen yang semakin dalam pada lapisan kulit sehingga merusak struktur lipid intraseluler.^{27,28}

Struktur lamellar lipid juga dapat terganggu akibat hidrasi berlebihan pada kulit yang menimbulkan suasana lembab sehingga mampu melunakkan

lapisan korneum epidermis dan mengganggu struktur lamellar lipid intraseluler. Kondisi tersebut terutama terjadi pada praktik higiene tangan mekanik seperti memakai sarung tangan dalam waktu yang lama.^{27,28}



Gambar 3. Diagram kerusakan barrier epidermis penyebab iritasi kulit.²⁶

2.4. Kayu Manis

Taksonomi kayu manis adalah sebagai berikut.

| | |
|-----------|--|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisio | : Gymnospermae |
| Subdivisi | : Spermatofita |
| Kelas | : Dikotil |
| Subkelas | : Dialipetal |
| Ordo | : Polikarpik |
| Suku | : Laurasea |
| Marga | : Cinnamomum |
| Spesies | : <i>Cinnamomum burmanii</i> . ²⁹ |



Gambar 4. Pohon dan Kulit Kayu Manis

Kayu manis merupakan tumbuhan tropis berkayu dengan famili *Lauraceae* dengan genus *Cinnamomum* serta memiliki 250 spesies berbeda, salah satunya adalah *Cinnamomum burmannii* atau dikenal sebagai *Indonesian Cinnamon*. Kayu manis tumbuh subur di iklim yang basah dan curah hujan tinggi dengan ketinggian ideal 500-1500 meter di atas permukaan laut. Diantara 20.000-25.000 ton produksi kayu manis dunia, 2/3 diantaranya merupakan hasil produksi Indonesia. Kayu manis merupakan tanaman yang kulit, batang, cabang dan dahannya digunakan sebagai bahan rempah-rempah. Kayu manis juga merupakan salah satu komoditas ekspor Indonesia dengan mayoritas produk berupa kulit kayu yang telah dikeringkan.^{30,31}

Secara tradisional, KKM dimanfaatkan sebagai agen antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antibakterial. Komposisi kayu manis diantaranya adalah sinamaldehyd, asam sinamat, etil sinamat, *epicatechin*, flavonoid, kumarin, eugenol, *proanthocyanidin* dan linalool.³⁰ Tiga komponen utama berupa sinamaldehyd, sinamil asetat, dan polifenol *proanthocyanidin*.^{12,32,33} Aroma manis yang dikeluarkan kulit kayu manis

berasal dari senyawa sinemaldehid sebagai senyawa dominan yang kadarnya mencapai 90% dalam sediaan minyak atsiri³⁰

2.5. Komponen Antibakterial pada Kulit Kayu Manis

Kayu manis telah banyak diteliti mengandung senyawa aktif antibakterial. Sinemaldehid merupakan senyawa volatile yang memiliki titik didih yang rendah dan mudah menguap pada suhu ruang.²⁴ Sinemaldehid telah teruji memiliki sifat antibakteri atas kemampuannya menghambat sintesis protein penyusun dinding sel bakteri.³⁴ Senyawa golongan aldehid ini bekerja dengan cara menginaktivasi protein dinding sel dengan membentuk ikatan silang kovalen dengan beberapa gugus organik fungsional protein.²² Apabila sintesis protein dan peptidoglikan terhambat, dinding sel bakteri akan kehilangan osmolaritasnya sehingga bakteri lisis.⁴ Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, senyawa alkaloid sinemaldehid lebih mudah diekstraksi menggunakan pelarut metanol.^{14,16,34,35}

Polifenol merupakan senyawa golongan dari fenol yang berperan merusak membran sitoplasma bakteri, sehingga menyebabkan ketidakstabilan fungsi pengendalian susunan protein dari sel bakteri. Tanin adalah senyawa polifenol berasal dari tumbuhan dan merupakan senyawa non volatil, yaitu senyawa dengan titik didih yang tinggi dan tidak mudah menguap pada suhu ruang. Tanin bereaksi dengan membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada dinding sel dan bakteri lisis. Selain itu, tanin juga mampu menghancurkan enzim dan fungsi materi genetik bakteri.³⁶

Flavonoid merupakan golongan fenol yang bersifat mudah larut dalam air. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Flavonoid bersifat tidak tahan panas sehingga perebusan yang terlalu lama dapat merusak molekul penyusunnya.¹⁵ Saponin mampu melisiskan membran sel dan menghambat DNA polimerase sehingga sintesa asam nukleat terganggu.³⁶

Tanin, saponin dan flavonoid merupakan zat aktif kulit kayu manis yang terlarut dalam air.³⁷

2.6. Perbedaan Cara dan Hasil Ekstraksi Kulit Kayu Manis

Ekstraksi adalah kegiatan menarik kandungan kimia yang dapat larut dengan pelarut cair sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Penelitian mengenai ekstraksi KKM telah banyak dilakukan dengan cara ekstraksi yang bervariasi. Perbedaan cara ekstraksi menghasilkan perbedaan kadar dan kandungan senyawa antibakteri. Penyimpanan hasil ekstraksi bergantung pada bentuk sediaan yang dihasilkan. Ekstrak cair disimpan dalam wadah botol kaca gelap. Waktu dan suhu penyimpanan ekstrak yang dianjurkan adalah pada suhu 4°C selama 45 hari, namun akan lebih optimal apabila digunakan dalam kurun waktu 14 hari.³⁸ Semakin rendah suhu penyimpanan maka kadar air akan semakin meningkat oleh karena pendinginan yang dapat memperlambat kecepatan reaksi metabolisme ekstrak dimana setiap penurunan suhu 8°C kecepatan reaksi akan berkurang separuhnya.³⁹

Macam-macam ekstraksi yang telah dilakukan pada KKM adalah sebagai berikut dapat dilihat pada Tabel 4.

2.6.1. Maserasi

Proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan disebut ekstraksi cara dingin maserasi. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena perendaman sampel tumbuhan akan menyebabkan pecahnya dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel, sehingga metabolik sekunder yang ada di dalam senyawa akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena waktu perendaman dapat diatur sesuai kebutuhan. Pemilihan pelarut pada maserasi juga menentukan keberhasilan ekstraksi senyawa. Pelarut air merupakan pelarut yang paling banyak digunakan untuk isolasi senyawa saponin.⁴⁰

2.6.2. Destilasi

Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan volatilitas atau kecepatan menguap. Pada proses ini, campuran zat dididihkan sehingga menguap. Uap tersebut didinginkan kembali dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih rendah seperti senyawa volatil akan menguap terlebih dahulu. Kandungan yang didapat dari ekstraksi penyulingan KKM adalah senyawa minyak atsiri yang mudah menguap.^{41,42}

2.6.3. Infusa

Infusa adalah proses ekstraksi dimana sediaan cair dibuat dengan menyaring simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit dengan perbandingan bahan dan pelarut sesuai konsentrasi yang diinginkan. Kandungan yang didapat dari ekstraksi kayu manis dengan cara ini antara lain tannin, saponin, dan flavonoid.^{40,43}

2.6.4. Dekoksi

Dekok adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 30 menit. Dekok dibuat dengan cara mencampur simplisia dengan derajat halus dalam panci dengan perbandingan bahan dan air sebagai pelarut sesuai konsentrasi yang diinginkan. Tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume dekok yang dikehendaki. Dekok diperuntukkan simplisia nabati yang keras seperti kayu, batang, biji dan lain sebagainya. Hasil ekstraksi dekoksi KKM kurang lebih sama seperti hasil infusa namun dengan kadar kandungan yang lebih sedikit akibat senyawa seperti flavonoid yang rusak oleh pemanasan yang berlangsung lama.^{15,43}

Tabel 4. Perbedaan Cara dan Hasil Ekstraksi kulit kayu manis.^{11,14,36,41}

| Metode Ekstraksi | Hasil Ekstraksi | Kandungan Ekstrak |
|---------------------------------|-------------------------------|---|
| Maserasi KKM dalam etanol 96% | Larutan kental | Alkaloid, saponin, tannin, polifenol, flavonoid, kuinon, teriterpenoid. |
| Maserasi KKM dalam methanol 80% | Bubuk (<i>freeze-dried</i>) | <i>Cinnamaldehyde</i> , <i>proanthocyanidin</i> , minyak atsiri. |

Tabel 4. Perbedaan Cara dan Hasil Ekstraksi kulit kayu manis (lanjutan).

| | | |
|-----------|---------|--|
| Infundasi | Larutan | Tannin, saponin, triterpenoid, flavonoid, minyak atsiri. |
| Dekoksi | Larutan | Tannin, saponin, triterpenoid, flavonoid (kadar rendah). |
| Destilasi | Minyak | Cinnamaldehyde, minyak atsiri. |

2.7. Pengukuran Aktivitas Antibakteri secara In Vitro

2.7.1. Metode Dilusi

Substansi antibakteri dalam kadar bertingkat dicampurkan ke dalam media cair yang selanjutnya dapat dilakukan perhitungan koloni melalui media padat. Pada umumnya substansi antiseptik digunakan dengan pengenceran dua kali lipat. Media yang sudah dicampur antiseptik kemudian diinokulasi dengan bakteri tertentu dan diinkubasi. Penilaian bersifat kuantitatif, dimana hasil akhir yang didapat berupa konsentrasi antimikroba yang optimal untuk menghambat (Kadar Hambat Minimum) dan membunuh (Kadar Bunuh Minimum) bakteri yang diuji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya dikultur pada media padat dan diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam. Konsentrasi KHM pada media padat yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KBM.^{4,17,22}

2.7.2. Koefisien Fenol

Merupakan salah satu metode dilusi dengan tujuan menentukan daya hambat senyawa antiseptik dengan membandingkannya terhadap standar fenol (koefisien fenol). Koefisien fenol dinyatakan sebagai rasio efektivitas fenol sebagai standar terhadap senyawa antibakteri yang diuji.²² Penilaian uji tersebut diperoleh dengan melihat dan membandingkan aktivitas fenol dengan pengenceran baku terhadap aktivitas sampel.^{44,45}

Penghitungan koefisien fenol dilakukan dengan rumus berikut.^{4,46}

$$\text{Koefisien fenol} = \frac{(A+B)+(C+D)}{2}$$

A = konsentrasi fenol tercepat membunuh

B = konsentrasi antiseptik tercepat membunuh

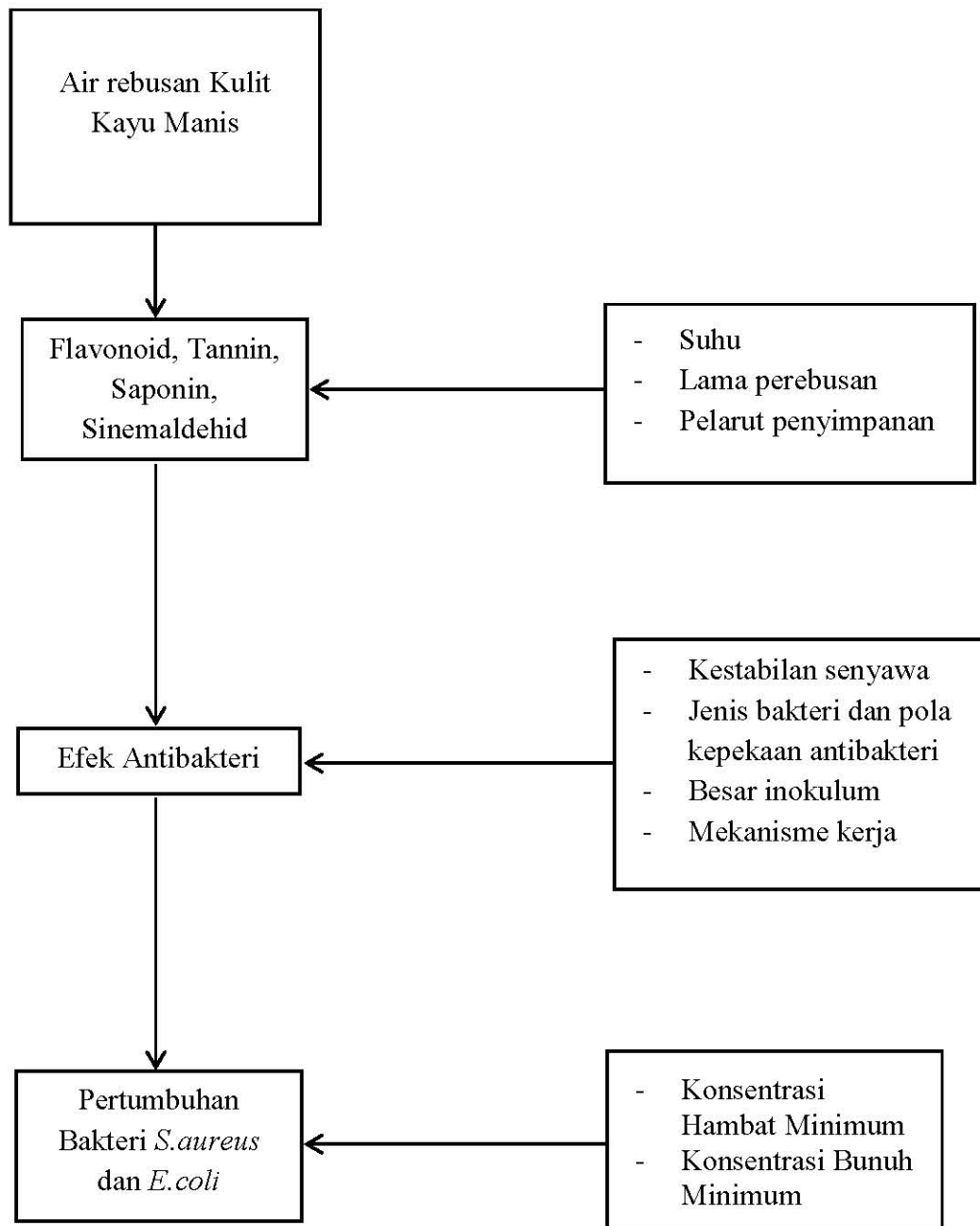
C = konsentrasi fenol terlama membunuh

D = konsentrasi antiseptik terlama membunuh

2.7.3. Metode Difusi

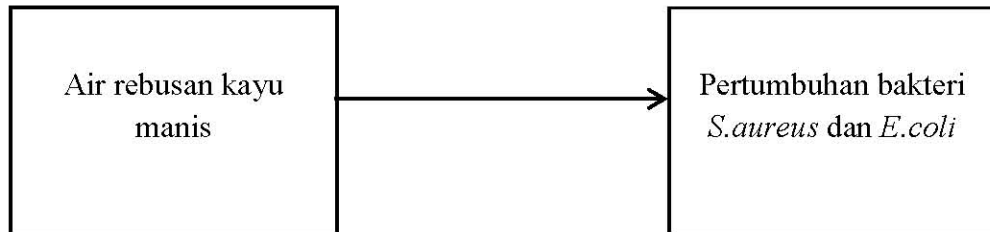
Terdapat beberapa jenis metode difusi, namun yang paling banyak digunakan adalah tes difusi lempeng atau tes *Kirby-Bauer*. Suatu lempeng kertas saring yang telah direndam dalam larutan senyawa antibakteri dalam konsentrasi tertentu ditempatkan pada permukaan media solid yang telah diinokulasi dengan bakteri uji lalu diinkubasi. Diameter zona hambat jernih yang mengelilingi lempeng dinilai sebagai kekuatan inhibitorik senyawa antibakteri. Interpretasi hasil akhir metode difusi didasarkan pada perbandingan antara metode difusi dan dilusi.⁴⁵⁻⁴⁷

2.8. Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori.

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep.

2.10. Hipotesis

2.10.1. Hipotesis Mayor

Air rebusan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki efek terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

2.10.2. Hipotesis Minor

1. KHM dan KBM air rebusan KKM terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol positif.
2. Terdapat pengaruh pemberian konsentrasi bertingkat air rebusan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*.